

UNTERSUCHUNGEN ZUM WIRKUNGSMECHANISMUS
VON INHIBIN AUS RINDEROVARIEN

von
Ursula Seidl
aus
Waldsassen



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546222_0046



Aus der Frauenklinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. K. G. Ober

UNTERSUCHUNGEN ZUM WIRKUNGSMECHANISMUS VON INHIBIN AUS RINDEROVARIEN

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Ursula Seidl
aus
Waldsassen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten
Referent: Priv.-Doz. Dr. H. Becker
Korreferent: Prof. Dr. K.-G. Ober
Tag der mündlichen Prüfung: 19.07.1979

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. Bisherige Untersuchungen über die Existenz und Eigenschaften des Inhibins	1
2. Eigene Untersuchungen	4
2.1 Zielsetzung der Untersuchungen	4
2.2 Material und Methoden	4
2.2.1 Versuchstiere	4
2.2.2 Gewinnung und Aufbereitung des Untersuchungsmaterials	5
2.2.3 Versuchsanordnung	6
2.2.4 Bestimmung von FSH und LH mit einem radioimmunologischen Assay	10
2.2.5 Statistische Auswertung	12
2.3 Ergebnisse	13
2.3.1 Ergebnisse der Protein- und Steroidbestimmung	13
2.3.2 Ergebnisse der Gonadotropinbestimmungen bei den Kontrolltieren	11
2.3.3 Ergebnisse der Gonadotropinbestimmungen bei der Versuchsgruppe 1	17
2.3.4 Ergebnisse der Gonadotropinbestimmungen bei der Versuchsgruppe 2	20
2.3.5 Ergebnisse der Gonadotropinbestimmungen bei der Versuchsgruppe 3	23
2.3.6 Ergebnisse der Gonadotropinbestimmungen bei der Versuchsgruppe 4	26
2.3.7 Ergebnisse der Gonadotropinbestimmungen bei der Versuchsgruppe 5	29
2.3.8 Ergebnisse der Gonadotropinbestimmungen bei der Versuchsgruppe 6	32

	<u>Seite</u>
2.3.9 Ergebnisse der Gonadotropinbestimmungen bei der Versuchsgruppe 7	35
2.3.10 Ergebnisse der Gonadotropinbestimmungen bei der Versuchsgruppe 8	39
2.3.11 Zusammenfassung der Versuchsergebnisse	42
3. Diskussion	43
3.1 Inhibinaktivität in der Follikelflüssigkeit	43
3.2 Angriffspunkt des Inhibins	44
3.3 Dosisabhängige Wechselwirkung zwischen Inhibin und GnRH	45
4. Zusammenfassung	48
5. Anhang	49
6. Literaturverzeichnis	51

- - -

1. Bisherige Untersuchungen über die Existenz und Eigenschaften des Inhibins

1932 wurde erstmals von MC CULLOGH die Existenz eines Hormons postuliert, das in den männlichen Keimdrüsen gebildet wird, aber der Wirkung nach nicht zu den Androgenen gezählt werden kann (5). So blieb nach Injektion wässriger Hodenextrakte, in denen keine Steroidhormone waren, bei kastrierten Ratten die Hypertrophie des Hypophysenvorderlappens aus, ohne daß zugleich, wie bei Androgenzufuhr zu erwarten, die akzessorischen Drüsen stimuliert wurden. MC CULLOGH gab diesem hypothetischen Hormon den Namen Inhibin. Etwa zur gleichen Zeit wurden die Beobachtungen gemacht, daß nach selektiver Zerstörung des Keimepithels, wie durch Ligatur der ductuli efferentes (40), durch Vitamin E-Mangel (40, 30, 24, 17, 10), Röntgenstrahlen (33, 14, 21, 20) oder durch Behandlung mit antispermatogenen Substanzen (31, 1, 15), unter Erhaltung der Leydigzellen, histologische Veränderungen der Hypophyse auftraten, die denen nach Kastration ähnlich waren, aber nicht mit Atrophie der akzessorischen Drüsen einhergingen. Alle diese Befunde deuteten darauf hin, daß neben den Androgenen noch ein weiteres Hormon in den männlichen Keimdrüsen, jedoch nicht in den Leydigzellen, gebildet werden muß. Ein weiterer Fortschritt war, daß DEBELJUK und GOMES nachweisen konnten, daß darüber hinaus die selektive Zerstörung des Keimepithels einen Anstieg der FSH-Serumkonzentration zur Folge hatte, ohne daß die Serumkonzentration von LH und Testosteron wesentlich beeinflußt wurden (7, 8, 16). Dieser Fortschritt war dadurch erst möglich geworden, daß man Hormone im Serum quantitativ durch radioimmunologische Methoden bestimmen konnte.

Klinische Krankheitsbilder mit isolierter Schädigung des

tubulären Apparates des Hodens zeigten ebenfalls eine Beziehung zwischen spermienbildendem System und FSH-Sekretion. Untersuchungen von FRANCHIMONT (11), VAN THIEL (39) und BECKER (2) deuteten darauf hin, daß ein biologischer Faktor im Keimepithel gebildet werden muß, der eine Kontrolle über die FSH-Ausschüttung im Sinne eines negativen Feedback-Mechanismus hat.

Die endokrinologische Forschung entwickelte im letzten Jahrzehnt zum Nachweis dieser Substanz verschiedene biologische Testmodelle (Bioassays), wie z.B. den Steelman-Pohley-Assay (37) oder den Maus-Uterus-Test (35,37). Ihnen ist gemeinsam, daß die biologische Wirkung des Inhibins durch morphologische Kriterien nachgewiesen wird.

Eine andere Methode zum Nachweis der Wirkung von Inhibin ist die radioimmunologische Messung der durch Inhibin bewirkten Veränderungen der Serum-Gonadotropinspiegel. Hier sind die Experimente von SETCHELL (35, 37, 38), KEOGH und LEE (23, 25) oder FRANCHIMONT (11, 12) zu nennen. SETCHELL gelang durch Injektion von Rete-Testis-Flüssigkeit von Widdern eine Senkung der FSH-Serumkonzentration bei Ratten, ohne daß die LH-Konzentration beeinflusst wurde. KEOGH und LEE infundierten testosteronfreie Extrakte aus Stierhoden und konnten ebenfalls einen selektiven Abfall des Serum-FSH-Spiegels bei kastrierten männlichen Schafen und Ratten beobachten. FRANCHIMONT gelang mit dieser Methode der Nachweis von Inhibinaktivität im Spermaplasma. In einer späteren Untersuchung (13) injizierte FRANCHIMONT inhibinhaltige Flüssigkeit zusammen mit dem synthetischen Gonadotropinreleasinghormon (GnRH). GnRH bewirkt an der Hypophyse die Freisetzung von FSH und LH. FRANCHIMONT konnte durch die Inhibininjektion eine selektive Unterdrückung der zu erwartenden FSH-Freisetzung erreichen. Dies deutete darauf hin, daß Inhibin seine Wirkung an der Hypophyse entfaltet.

Die chemische Natur des Inhibins ist im einzelnen noch nicht geklärt. Man weiß, daß es keine Steroidstruktur besitzt, da der FSH-hemmende Effekt bei den erwähnten Versuchen mit steroidfreien Extrakten nachweisbar war. FRANCHIMONT fand, daß Inhibin durch proteolytische Enzyme zerstörbar ist (13). Diese Untersuchungen weisen darauf hin, daß es sich beim Inhibin um ein Protein handelt.

Die Frage, ob dem Inhibin auch im weiblichen Organismus eine Bedeutung zukommt, wurde lange Zeit nicht beachtet; alle Untersuchungen bezogen sich ausschließlich auf den männlichen Organismus. Erst 1976 wurde von HIRSCHHÄUSER et al. (19), DE JONG et al. (22) und BECKER et al. (3) mit Follikelflüssigkeit und Ovarialhomogenisat experimentiert. Die Autoren konnten auch in den weiblichen Keimdrüsen die Wirkung einer Substanz nachweisen, die selektiv den Serum-FSH-Spiegel unterdrückt. Sie vermuten, daß es sich hier um dasselbe Hormon wie im männlichen Organismus handelt.

2. Eigene Untersuchungen

2.1 Zielsetzung der Untersuchungen

In der vorliegenden Arbeit wollten wir die Existenz von Inhibin in der Follikelflüssigkeit von Rinderovarien nachweisen und untersuchen, ob Inhibin in allen Stadien der Follikelreifung in gleichem Ausmaß vorhanden ist.

Unser besonderes Interesse aber lag darin, Einblick in die Wirkungs-dynamik des Inhibins zu gewinnen. Es sollte geklärt werden, ob Inhibin seine Wirkung an der Hypophyse entfaltet und ob eine Dosis - Wirkungsbeziehung zwischen Inhibin und dem synthetischen Gonadotropin-releasinghormon (GnRH) besteht.

2.2 Material und Methoden

2.2.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere nahmen wir männliche, geschlechtsreife Ratten vom Sabra-Stamm. Die Tiere waren zum Zeitpunkt der Kastration 65 ± 3 Tage alt und hatten ein Durchschnittsgewicht von 275 g. Sie wurden unter natürlichen Tag-Nacht-Bedingungen gehalten; das in Laboratorien übliche Trockenfutter und Wasser standen zur freien Verfügung.

2.2.2 Gewinnung und Aufbereitung des Untersuchungsmaterials

Wir punktierten die Follikel der Ovarien frisch geschlachteter, geschlechtsreifer Rinder. Die Follikel wurden nach folgenden Kriterien eingeteilt:

- a) in Follikel, die bei der histologischen Untersuchung eine dünne Granulosazellschicht zeigten (weniger als fünf Zellagen) und bei denen Theca externa und Theca interna noch nicht differenziert werden konnten. Diese Follikel waren alle kleiner als 0,5 cm im Durchmesser (Kleine Follikel, s. Abb. 21).
Wir bezeichnen diese Follikel in der folgenden Arbeit mit PF.
- b) in Follikel, bei denen im histologischen Bild eine dicke, proliferierende Granulosazellschicht und eine bereits ausgebildete Theca externa und interna zu sehen war. Alle Follikel hatten einen Durchmesser zwischen 0,5 und 1 cm (mittelgroße Follikel, s. Abb. 22).
Wir bezeichnen diese Follikel im Folgenden mit SF.
- c) in ausgereifte, sprungreife Follikel. Der Durchmesser dieser Follikel lag zwischen 1 und 2 cm (große Follikel, s. Abb. 23).
Diese Follikel unterschieden sich von SF nur durch ihre Größe.
Im Folgenden bezeichnen wir diese Follikel mit TF.
- d) Ferner entnahmen wir Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln. Histologisch sind diese Follikel gekennzeichnet durch eine dünne, hyalinisierte Kapsel und durch unvollständige Luteinisierung der Granulosazellen. Sie hatten einen Durchmesser von mehr als 2,5 cm (s. Abb. 24).
Wir bezeichnen im Folgenden diese Follikel mit CY.

Die verschiedenen Follikelflüssigkeiten wurden unmittelbar nach der Entnahme auf 4° C gekühlt und die Steroide mit Dichlormethan (Mischungsverhältnis 1 : 5 v/v) 20 Minuten lang extrahiert. Zur genaueren Trennung der beiden Phasen zentrifugierten wir die Flüssigkeit bei 3000 upm 15 Minuten lang. Der klare Überstand wurde abpipettiert und die Vollständigkeit der Steroid-Extraktion durch Bestimmung von Östradiol mittels eines spezifischen Radioimmunoassays überprüft. Der Proteingehalt wurde nach LOWRY bestimmt (27). Bis zum endgültigen Gebrauch lagerten wir die Flüssigkeiten bei -20°C.

2.2.3 Versuchsanordnung

Die Ratten wurden beidseitig orchidektomiert. Acht Stunden nach der Kastration begann die Behandlung mit Follikelflüssigkeit. Wir injizierten den Tieren drei Tage lang in achtstündigem Intervall 0,2 ml Flüssigkeit aus den Follikeln unterschiedlicher Reifungsgrade. Zwei Versuchstiere erhielten Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln, die wir tags zuvor auf 90° C erhitzt hatten. Bei einer Versuchsgruppe unterließen wir die intraperitonealen Injektionen.

Als Kontrolltiere dienten uns sechs Ratten, denen anstelle von Follikelflüssigkeit 0,9 %ige NaCl Lösung injiziert wurde (s. Tabelle 1).

Acht Stunden nach der letzten Injektion bzw. drei Tage nach der Kastration wurden alle Tiere durch eine intraperitoneale Injektion von Pentobarital (Nembutal^R; 40 mg/kg Körpergewicht) und Atropin (0,03 mg/kg Körpergewicht) anästhesiert.

Am Hals der Ratten wurde ein Längsschnitt angelegt, die vena jugularis freipräpariert und nach den Prinzipien einer venae sectio ein Polyäthylenkatheder eingeführt.

(Länge des Katheters: 20 cm, Durchmesser 1 mm).

Aus dem Venenkatheter wurde 1 ml Blut entnommen. Anschließend injizierten wir durch den Katheter je nach Versuchsgruppe 0,125 ml, 0,5 ml oder 1 ml der selben Testflüssigkeit, die die Tiere schon bei den ip-Injektionen erhalten hatten, sowie 1 μ g synthetisches Gonadotrophinreleasinghormon (GnRH). Der Kontrollgruppe verabreichten wir statt der Follikelflüssigkeit 0,5 ml NaCl (s. Tabelle 1).

Anzahl der Tiere	Art der injz. Flüssigkeit	Menge der ip- Injekt. im 8-stündigen Abstand	Menge der iv.-Injekt. d. Testflüssigk.	Menge der iv.-Injekt. von GnRH
Kontrollgruppe	0,9 % NaCl	0,2 ml	0,5 ml	1 µ g
Versuchsgruppe 1	PF	0,2 ml	0,5 ml	1 µ g
Versuchsgruppe 2	SF	0,2 ml	0,5 ml	1 µ g
Versuchsgruppe 3	TF	0,2 ml	0,5 ml	1 µ g
Versuchsgruppe 4	CY	0,2 ml	0,5 ml	1 µ g
Versuchsgruppe 5	CY	-	0,5 ml	1 µ g
Versuchsgruppe 7	CY	0,2 ml	0,125 ml	1 µ g
Versuchsgruppe 8	CY	0,2 ml	1,0 ml	1 µ g
Versuchsgruppe 9	CY gekocht	0,2 ml	0,5 ml	1 µ g

1
∞
1

Tabelle 1: Behandlungsschema der Versuchstiere

30 Minuten, 60 Minuten und 120 Minuten nach der Injektion der Testflüssigkeit und des Releasinghormons wurde bei allen Tieren 1 ml Blut aus dem Venenkatheter entnommen und das Volumen durch 0,9 %ige NaCl-Lösung ersetzt (s. Abbildung 1).

Am Ende der Behandlung wurde der Katheter entfernt, die Vene ligiert und die Wunde vernäht.

Alle Tiere waren vom Beginn der Operation bis zum Ende des Experiments in Narkose.

Das gewonnene Blut wurde zentrifugiert, die Seren abpipettiert und bei -20°C bis zur Bestimmung der FSH- und LH-Werte aufbewahrt.

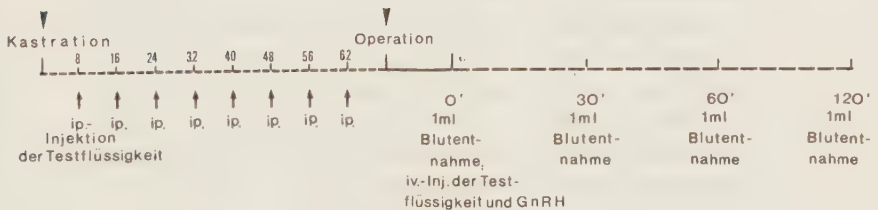


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung

2.2.4 Bestimmung von FSH und LH mit Hilfe eines spezifischen Radioimmunoassays (RIA)

Die FSH- und LH-Spiegel der Rattenserum wurden radioimmunologisch mit Hilfe der Doppel-Antikörpermethode bestimmt.

a) Das Prinzip des RIA

Das Prinzip des RIA beruht auf der Konkurrenzreaktion von radioaktiv markiertem und nicht markiertem Antigen um die Bindung an den Antikörper unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes. Dieser Immunkomplex präzipitiert. Die Menge an markiertem Hormon im Niederschlag ist ein Maß für den sich im System befindenden nicht markierten Hormongehalt. Beendet sich im Ansatz bei Zugabe von konstanten Mengen markierten Hormons viel nicht markiertes Hormon, so werden sich nach Einstellung des Gleichgewichtes größere Mengen an nicht markiertem Hormon im Niederschlag finden. Ist dagegen im Ansatz nur eine geringe Hormonkonzentration, dann ist im Niederschlag mehr radioaktives Hormon vorhanden. Mit Hilfe einer Standardkurve, die die Aktivität im Präzipitat bei festgelegten Hormonmengen im Ansatz widerspiegelt, kann dann der unbekannte Hormongehalt einer Probe errechnet werden.

b) Durchführung des RIA für LH und FSH

1. Radioaktive Markierung von Ratten - FSH und - LH
Zur radioaktiven Markierung der beiden Hormone FSH und LH benutzten wir das radioaktive Jodisotop 125. Der Jodinationsvorgang erfolgte nach der Chloramin-T-Methode. In einem besonders strahlengeschützten Raum wurde unter Abzug folgender Ansatz bereitet:

- a) 25 Mikroliter Phosphatpuffer (0,5 Molar, pH 7,5)
- b) 5 Mikroliter Hormonlösung (hochgereinigtes Ratten-FSH bzw. LH)
- c) 1 mCi Jod 125.

Der Ansatz wurde mit einem Magnetrührer durchmischt und anschließend wurden

- d) 10 Mikroliter Chloramin-T zugegeben.

Chloramin-T bewirkt als starkes Oxydationsmittel die Anlagerung des radioaktiv markierten Jods an die Tyrosinmoleküle des Hormons.

Eine Minute nach Chloramin-T-Zugabe wurde durch Zufuhr von 100 µl Na-Metabisulfid (Na_2SO_3) der Oxydationsvorgang aufgehoben. Na-Metabisulfid ist ein starkes Reduktionsmittel und überträgt sein Elektron auf Chloramin-T, das damit inaktiviert wird. Durch Zugabe von 200 Mikroliter KJ-Lösung wurde die Entstehung radioaktiver Joddämpfe verhindert.

Der Markierungsansatz wurde anschließend auf eine Sephadex-G-75-Säule aufgetragen (Länge: 30 cm, Durchmesser: 1 cm). Durch Gelchromatographie trennte sich das proteingebundene radioaktive Jod vom nicht proteingebundenen.

2. Bestimmung der Gonadotropine in den gewonnenen Rat- tenseren-----

Die Inkubation des Standards (jeweils 9 Konzentrationen in 6-facher Ausführung) und der Serumproben mit den Reagenzien wurde in drei Schritten ausgeführt:

Inkubation von 0,1 ml Serum mit 0,1 ml Antikörper-Lösung (Antirattenglobulin von NIAMD⁺) bei 4° C für 48 Stunden.

Zugabe von 0,1 ml markiertem Hormon (5.000 cpm) und Inkubation bei 4° C für 72 Stunden.

Zufuhr von 0,1 ml normalem Kaninchenserum (NRS; Verdünnung 1 : 500) und Antikaninchenglobulin von der Ziege (GAR; Verdünnung 1 : 30). Inkubation bei 4° C für 48 Stunden.

Nach der Inkubation wurde in alle Gläser 1 ml Aqua dest. (4° C) gepumpt, anschließend trennte man das gebundene Hormon vom ungebundenen durch Zentrifugation (3.000 upm; 10 Min.; Zentrifuge auf 4° C gekühlt). Der Überstand wurde mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt und das Präzipitat im Gamma-Counter zwei Minuten lang gezählt. Die Berechnung des Hormongehaltes erfolgte aus den Counts/Min. Wir führten für jede Serumprobe eine Doppelbestimmung im unverdünnten und eine Doppelbestimmung mit 1 : 2 (v/v) Verdünnung mit Phosphatpuffer (pH 7,5) durch. Die Standardkurve erstreckte sich für FSH von 2 ng/ml bis 500 ng/ml und für LH von 1 ng/ml bis 320 ng/ml.

2.2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit der Methode der Varianzanalyse nach SCHEFFE (18) durchgeführt.

+ National Pituitary Agency (Univ. of Maryland, School of Medicine), Endocrine Study Section and National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases.

2.3 Ergebnisse

2.3.1 Ergebnisse der Protein- und Steroidbestimmung

Follikelflüssigkeit aus:	Proteingehalt mg/ml	Östradiolgehalt pg/ml (nach Extraktion mit Dichlormethan)
PF	6,6 ± 0,72	< 10
SF	7,0 ± 0,83	< 10
TF	5,8 ± 0,83	< 10
CY	6,4 ± 0,68	< 10

Tabelle 2: Protein- und Östradiolgehalt in den
Flüssigkeiten der verschiedenen Follikel

Der Proteingehalt in den Flüssigkeiten der verschiedenen Follikeln war annähernd gleich.

Die Extraktion von Östradiol aus der Follikelflüssigkeit war nahezu vollständig. Die Konzentrationen lagen unter 10 pg/ml und konnten mit unserem RIA nicht mehr exakt bestimmt werden.

2.3.2 Ergebnisse der Kontrollgruppe

Der Kontrollgruppe wurde nach der Kastration 0,2 ml NaCl in 8-stündigem Abstand drei Tage lang i.p. injiziert.

Intravenös wurde ihr danach 0,5 ml NaCl und 1 ug GnRH verabreicht (siehe Tabelle 1).

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	68	210	160	105
Tier 2	28	180	160	90
Tier 3	70	240	260	160
Tier 4	60	95	80	75
Tier 5	75	130	130	150
Tier 6	85	250	120	65
$\bar{x}$	64,3	184,2	151,7	107,5

Tabelle 3: Verhalten von FSH (siehe Abbildung 2)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	18	48	35	31
Tier 2	9	42	36	25
Tier 3	7	32	32	32
Tier 4	20	50	80	100
Tier 5	5	180	130	7
Tier 6	12	110	200	4
$\bar{x}$	11,8	77,0	85,5	33,17

Tabelle 4: Verhalten von LH (siehe Abbildung 3)

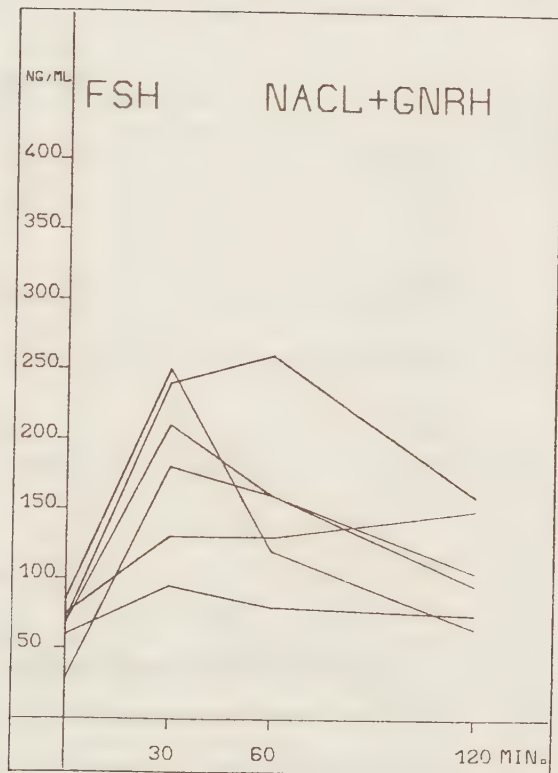


Abbildung 2: FSH-Serumkonzentration der Kontrollgruppe

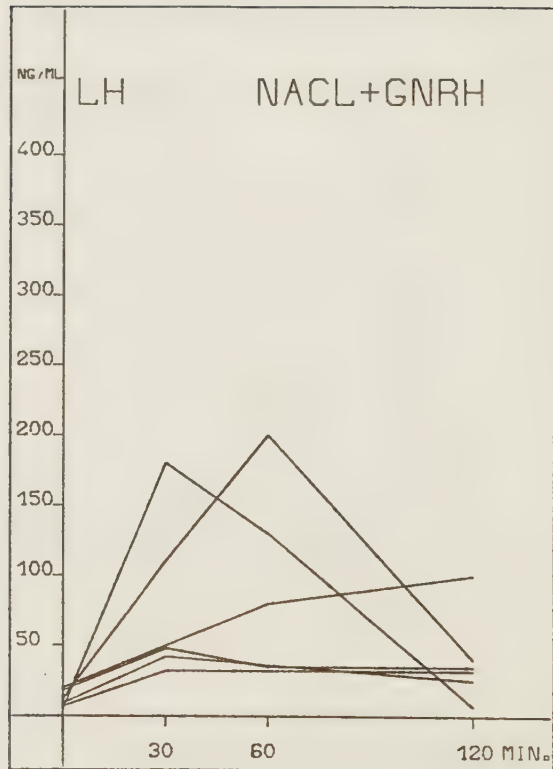


Abbildung 3: LH-Serumkonzentration bei der Kontrollgruppe

30 Minuten nach Gabe von GnRH stiegen die Serum-FSH-Werte um durchschnittlich 120 ng/ml, die LH-Werte um durchschnittlich 62,5 ng/ml an. Der Anstieg ist statistisch signifikant ($p < 0,05$).

60 Minuten nach der Injektion lagen die Gonadotropinspiegel höher als die Ausgangswerte, nach 120 Minuten unterschieden sie sich statistisch nicht mehr von den Ausgangswerten.

2.3.3 Ergebnisse der Versuchsgruppe 1

Versuche mit Flüssigkeit aus keinen Follikeln (PF)
(s. Tabelle 1).

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	16	58	32	16
Tier 2	10	70	56	40
Tier 3	30	105	100	58
Tier 4	64	100	65	46
Tier 5	35	95	68	60
$\bar{x}$	31,0	85,6	64,2	44,0

Tabelle 5: Verhalten von FSH (siehe Abbildung 4)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	4,6	48	100	14
Tier 2	12	90	32	6
Tier 3	20	100	100	60
Tier 4	12	90	60	46
Tier 5	8,4	26	50	27
$\bar{x}$	9	72,8	68,4	30,6

Tabelle 6: Verhalten von LH (siehe Abbildung 5)

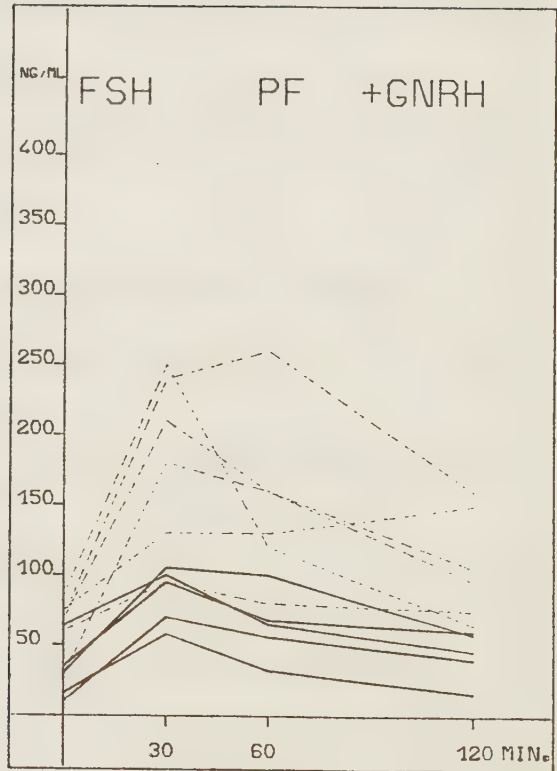


Abbildung 4: FSH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 1

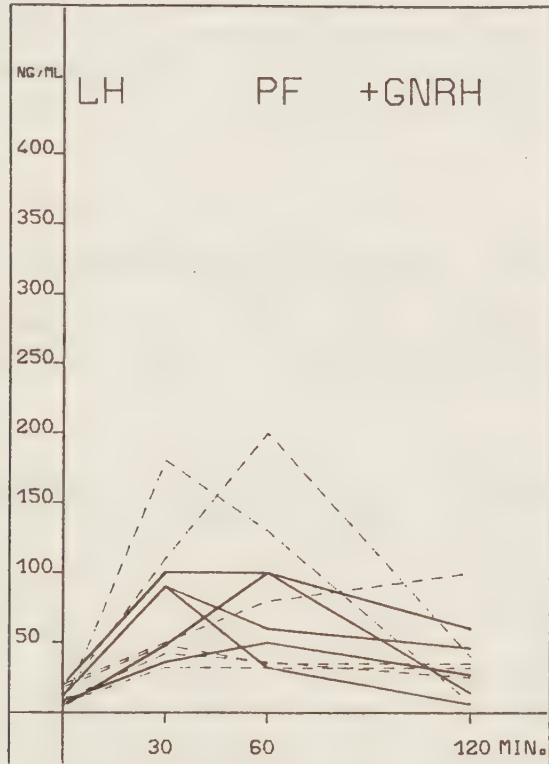


Abbildung 5: LH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 1

Nach Injektion von 0,5 ml Flüssigkeit aus PF (3,3 mg Protein) änderte sich die Reaktion von FSH und LH auf GnRH-Zufuhr gegenüber der Kontrollgruppe nicht. Es konnten 30 Minuten nach Injektion der Testflüssigkeit und des Releasinghormons signifikant erhöhte Gonadotropinspiegel im Vergleich zu den Ausgangswerten festgestellt werden ($p < 0,05$).

2.3.4 Ergebnisse der Versuchsgruppe 2

Versuche mit Flüssigkeit aus mittelgroßen Follikeln (SF) (s. Tabelle 1)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	130	80	65	125
Tier 2	95	100	75	130
Tier 3	78	100	78	75
Tier 4	100	78	130	75
Tier 5	98	102	110	88
$\bar{x}$	100,2	92	91,6	98,6

Tabelle 7: Verhalten von FSH (siehe Abbildung 6)

Tabelle 8: Verhalten von LH (siehe Abbildung 7 nächste Seite)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	6	200	300	131
Tier 2	9,6	180	156	32
Tier 3	8	320	320	65
Tier 4	25	320	320	100
Tier 5	10	180	215	65
$\bar{x}$	11,7	240	262,2	78,6

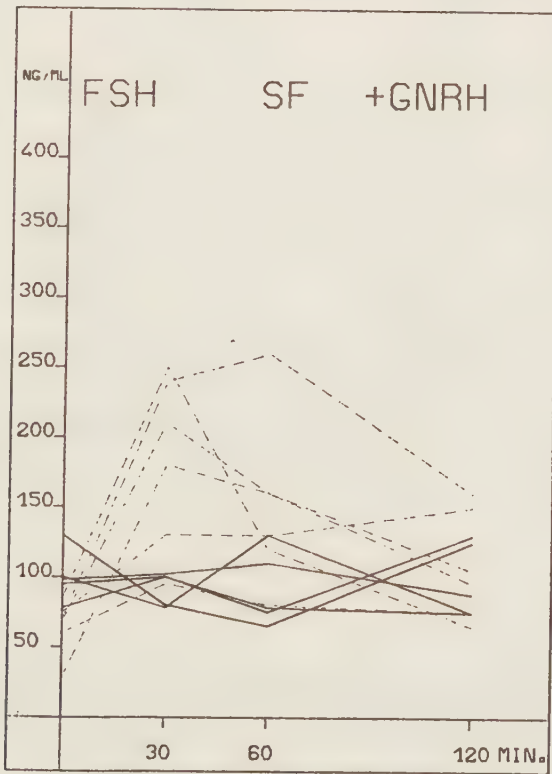


Abbildung 6: FSH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 2

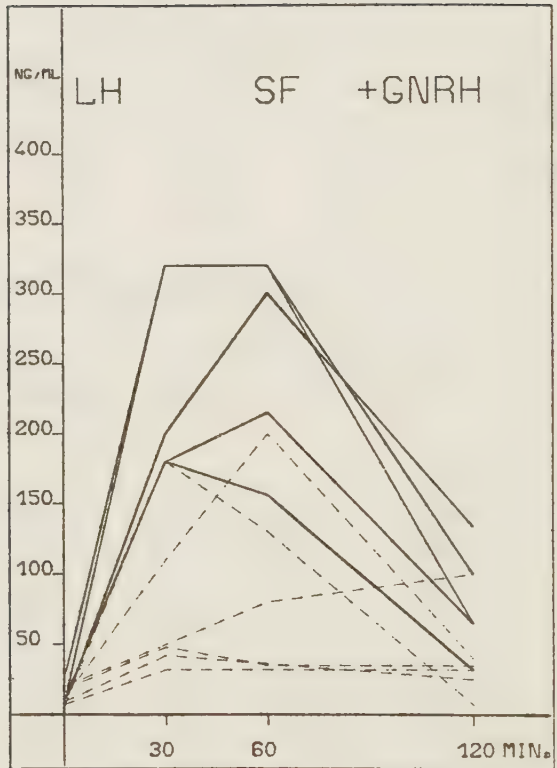


Abbildung 7: LH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 2

Die Injektion von 0,5 ml Flüssigkeit aus SF (3,5 mg Protein) konnte die durch GnRH induzierte FSH-Freisetzung völlig unterdrücken.

Die LH-Ausschüttung wurde nicht gehemmt. 30 Minuten nach der Injektion waren die LH-Werte sogar signifikant höher ($p < 0,05$) als bei der Kontrollgruppe.

2.3.5 Ergebnisse der Versuchsgruppe 3

Versuche mit Flüssigkeit aus großen Follikeln (TF)
(s. Tabelle 1)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	50	63	40	34
Tier 2	40	84	96	63
Tier 3	36	36	18	15,2
Tier 4	84	96	78	32
Tier 5	64	45	55	65
$\bar{x}$	54,8	64,8	57,4	41,8

Tabelle 9: Verhalten von FSH (Siehe Abbildung 8)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	9,8	190	132	14
Tier 2	5	265	135	25
Tier 3	8	241	170	48
Tier 4	4,1	320	160	46
Tier 5	9	165	-	-
$\bar{x}$	7,2	236	149,2	33,2

Tabelle 10: Verhalten von LH (Siehe Abbildung 9)

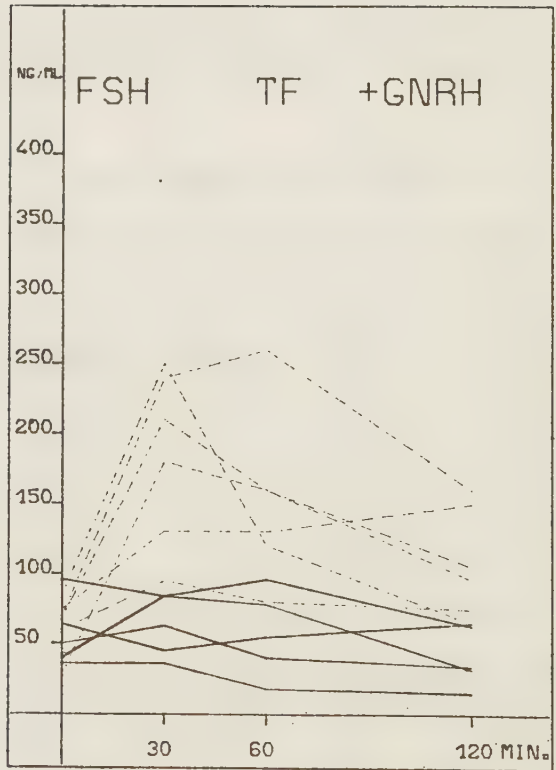


Abbildung 8: FSH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 3

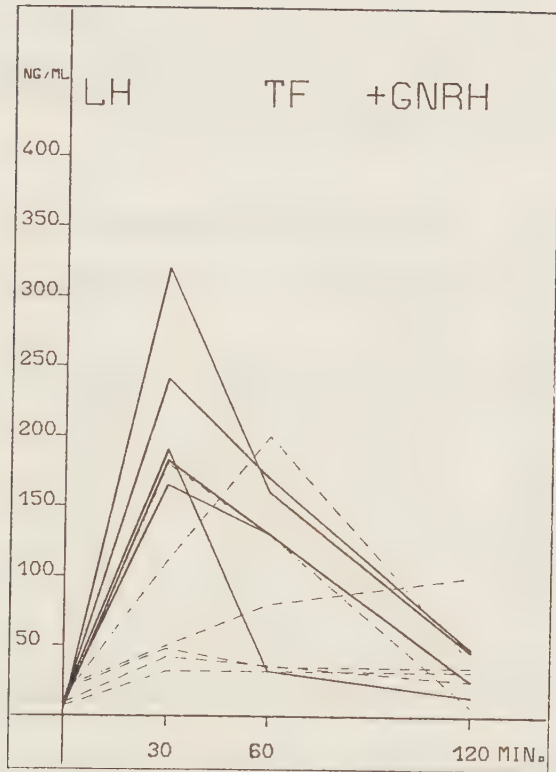


Abbildung 9: LH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 3

Nach Gabe von 0,5 ml Flüssigkeit aus TF (2,9 mg Protein) konnte der durch GnRH-Injektion induzierte FSH-Anstieg vollkommen unterdrückt werden. Die LH-Werte erhöhten sich nach 30 Minuten signifikant im Vergleich zu den Ausgangswerten, auch konnte eine signifikant höhere LH-Freisetzung im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet werden.

2.3.6 Ergebnisse der Versuchsgruppe 4

Versuche mit Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln (CY) (s. Tabelle 1)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	46	46	44	56
Tier 2	46	26	34	65
Tier 3	38	40	30	30
Tier 4	110	60	76	82
Tier 5	94	100	110	80
$\bar{x}$	66,8	54,4	58,8	62,6

Tabelle 11: Verhalten von FSH (siehe Abbildung 10)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	9	165	180	20
Tier 2	8	130	110	12
Tier 3	10	100	80	20
Tier 4	9,4	220	68	71
Tier 5	15	146	160	28
$\bar{x}$	10,3	152,2	119,6	30,2

Tabelle 12: Verhalten von LH (siehe Abbildung 11)

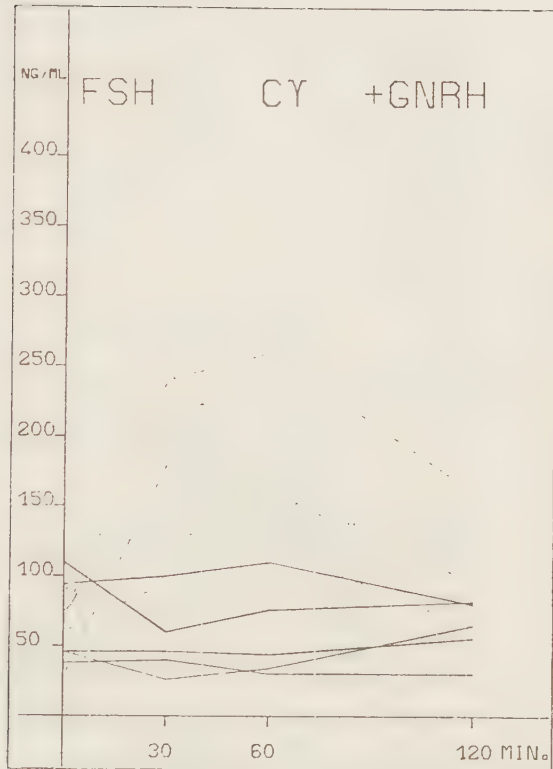


Abbildung 10: FSH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 4

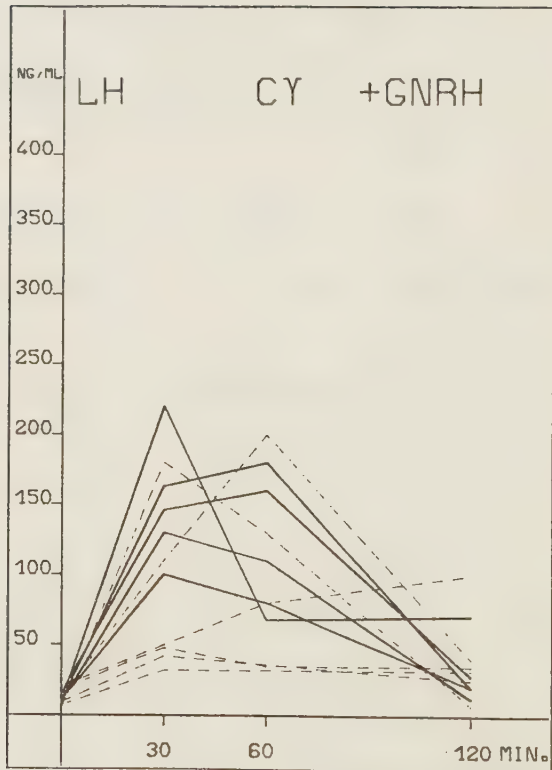


Abbildung 11: LH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 4

30 Minuten nach der Injektion von 0,5 ml Flüssigkeit (3,2 mg Protein) aus persistierenden Follikeln (CY) und 1 µg GnRH konnte ein geringer FSH-Abfall um durchschnittlich 12,4 ng/ml gemessen werden. Die durch GnRH induzierte FSH-Freisetzung wurde völlig unterdrückt.

Die LH-Werte lagen 30 Minuten und 60 Minuten nach der Injektion von GnRH und der Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher ($p < 0,05$).

2.3.7 Ergebnisse der Versuchsgruppe 5

Versuche mit Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln (CY), wobei im Gegensatz zur Kontrollgruppe die i.p.-Injektionen unterlassen wurden (s. Tabelle 1).

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	40	52	48	
Tier 2	40	44	44	
Tier 3	56	60	64	
Tier 4	62	62	56	
$\bar{x}$	51,5	54,5	53	

Tabelle 13: Verhalten von FSH (siehe Abbildung 12)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	16	270	86	
Tier 2	10	210	125	
Tier 3	13	185	95	
Tier 4	12	148	67	
$\bar{x}$	12,7	203,2	93,2	

Tabelle 14: Verhalten von LH (siehe Abbildung 13)

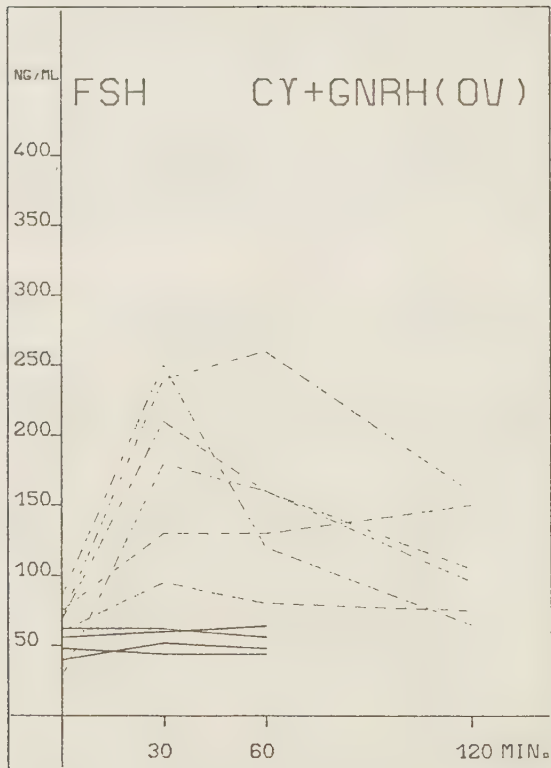


Abbildung 12: FSH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 5

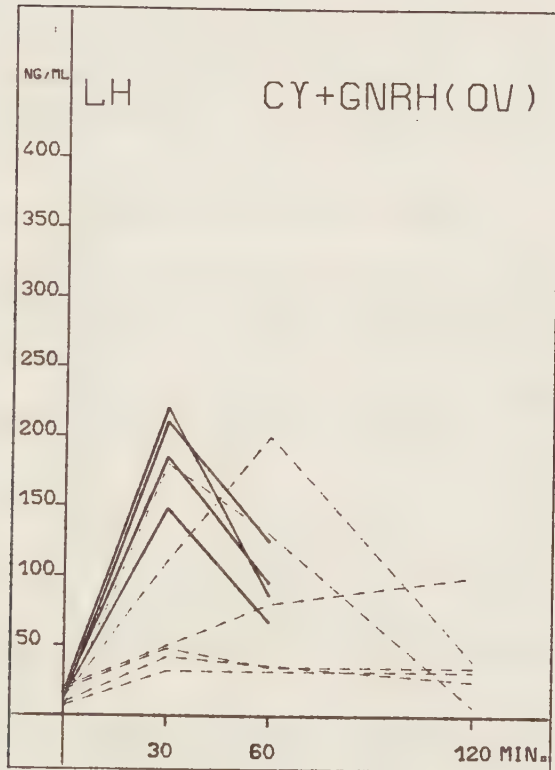


Abbildung 13: LH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 5

Die Tiere ohne i.p.-Vorbehandlung zeigten im Ausgangswert keine statistisch signifikanten Unterschiede zu den Ratten, die mehrmalige i.p.-Injektionen von NaCl oder Flüssigkeiten aus PF, SF, TF oder CY erhielten. Auch hinsichtlich der Gonadotropinausschüttung nach Gabe von 1 μ g GnRH unterschieden sie sich nicht von den vorbehandelten Tieren (Vgl. Versuchsgruppe 4).

2.3.8 Ergebnisse der Versuchsgruppe 6

Versuche mit Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln (CY) mit Verringerung der intravenösen Dosis der Follikelflüssigkeit auf 0,125 ml (s. Tabelle 1).

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	58	108	95	58
Tier 2	78	116	116	65
Tier 3	100	150	140	116
Tier 4	84	96	84	84
$\bar{x}$	80	117,5	108,7	80,7

Tabelle 15: Verhalten von FSH (siehe Abbildung 14)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	12	64	40	30
Tier 2	18	66	54	32
Tier 3	14	75	45	32
Tier 4	14	120	56	44
$\bar{x}$	14,5	81,25	48,7	34,5

Tabelle 16: Verhalten von LH (siehe Abbildung 15)

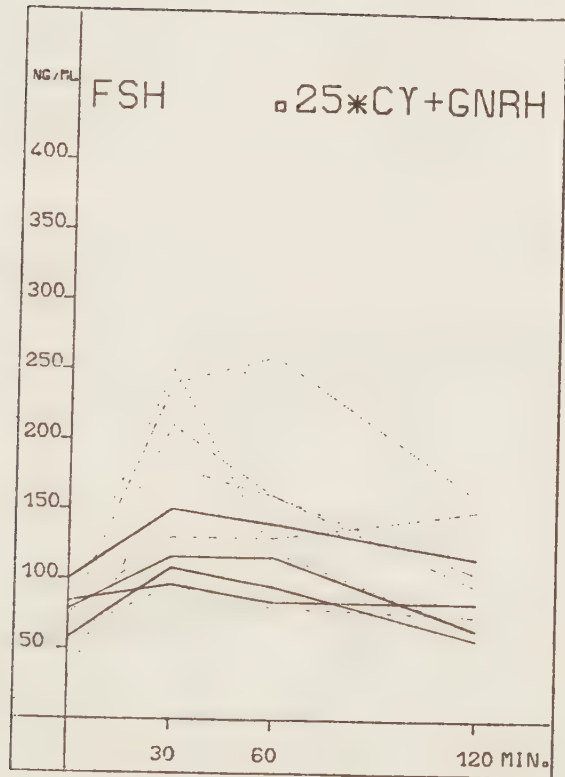


Abbildung 14: FSH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 6

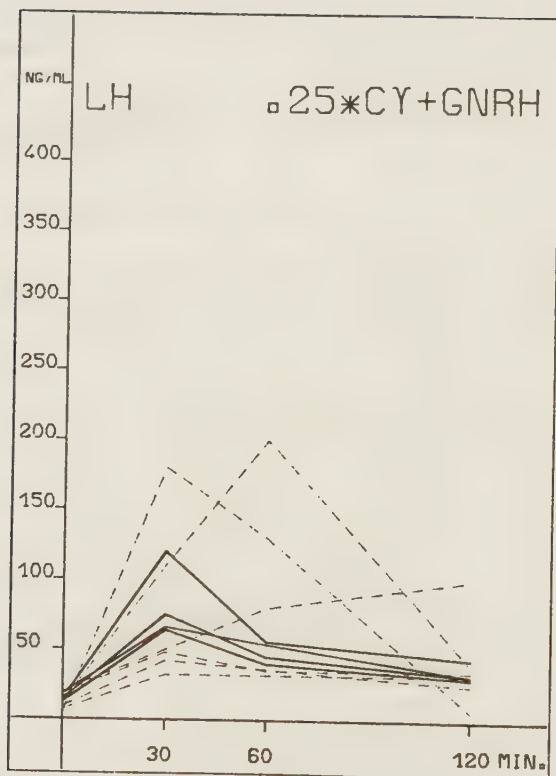


Abbildung 15: LH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 6

Durch die Injektion von 0,125 ml Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln (1,6 mg Protein) konnte der GnRH induzierte Anstieg von FSH gegenüber der Kontrollgruppe vermindert werden ($p < 0,05$). 30 Minuten nach Injektion der Testflüssigkeit und des Releasinghormons konnten wir einen FSH-Anstieg um durchschnittlich 37,5 ng/ml messen.

30 Minuten und 60 Minuten nach der Injektion fanden sich gegenüber der Kontrollgruppe deutlich erniedrigte LH-Werte.

2.3.9 Ergebnisse der Versuchsgruppe 7

Versuche mit Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln (CY) mit Vermehrung der intravenös verabreichten Follikelflüssigkeit auf 1 ml (s. Tabelle 1).

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	48	42	38	40
Tier 2	46	52	50	45
Tier 3	48	50	56	48
Tier 4	68	56	56	48
Tier 5	62	62	62	56
$\bar{x}$	54,4	52,4	52,8	47,4

Tabelle 17: Verhalten von FSH (siehe Abbildung 16)

Zeit	0'	30'	60'	120'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	11	240	200	130
Tier 2	12	220	160	38
Tier 3	5	195	156	21
Tier 4	23	210	185	40
Tier 5	4	230	182	28
$\bar{x}$	11	219	176,6	51,4

Tabelle 18: Verhalten von LH (siehe Abbildung 17)

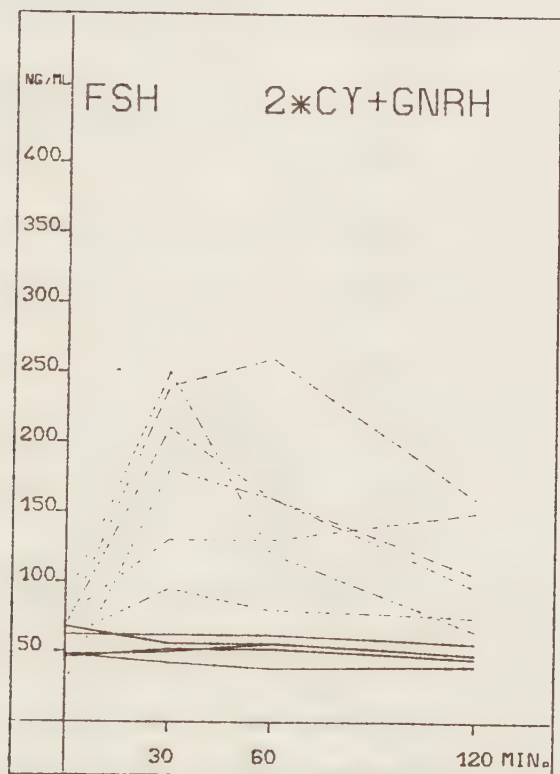


Abbildung 16: FSH-Serumkonzentration bei der Kontrollgruppe 7

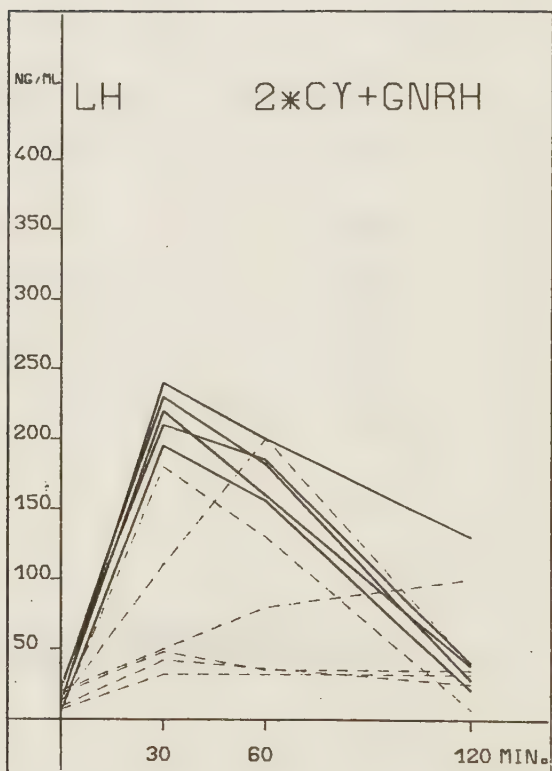


Abbildung 17: LH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 7

Nach Injektion von 1 ml Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln (6,4 mg Protein) konnte die Wirkung von GnRH auf die FSH-Freisetzung vollkommen aufgehoben werden. Eine Unterdrückung unter die Ausgangswerte konnte nicht erreicht werden.

Die LH-Freisetzung war im Vergleich zu den Kontrollgruppen signifikant erhöht ($p < 0,05$).

2.3.10 Ergebnisse der Versuchsgruppe 8

Versuche mit zuvor erhitzter Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln (s. Tabelle 1).

Zeit	0'	30'	60'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	135	500	500
Tier 2	80	290	160

Tabelle 19: Verhalten von FSH (siehe Abbildung 18)

Zeit	0'	30'	60'
	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Tier 1	24	90	75
Tier 2	5	62	42

Tabelle 20: Verhalten von LH (siehe Abbildung 19)

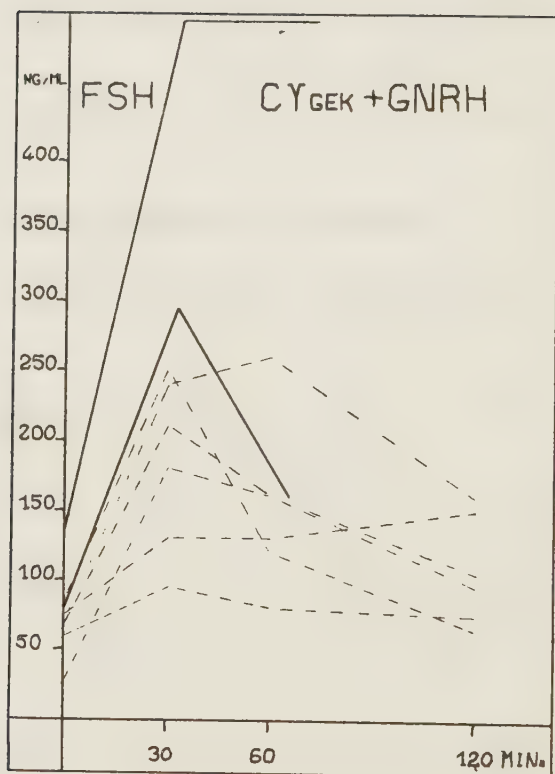


Abbildung 18: FSH-Serumkonzentration der Versuchsgruppe 8

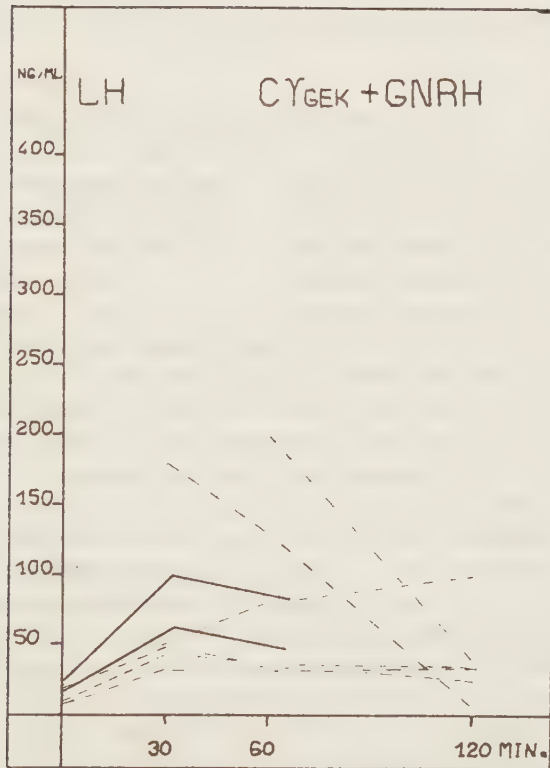


Abbildung 19: LH-Serumkonzentration bei der Versuchsgruppe 8

Die FSH- und LH-Werte der Versuchstiere, denen wir zuvor auf 90° C erhitzte Flüssigkeit aus CY injizierten, unterschieden sich nicht signifikant von denen der Kontrollgruppe.

2.3.11 Zusammenfassung der Versuchsergebnisse

Bei kastrierten männlichen Ratten konnten wir 30 Minuten nach Injektion von 1 µ GnRH und 0,5 ml NaCl den erwarteten signifikanten Anstieg der Serum-FSH- und LH-Werte feststellen.

Wurde den Versuchstieren 0,5 ml Flüssigkeit aus kleinen Follikeln (PF) von Rinderovarien injiziert, so verhielten sich FSH und LH wie bei den Kontrolltieren. Ebenfalls kein Unterschied zur Kontrollgruppe konnte nach Injektion von Flüssigkeit aus persistierenden Follikeln (CY), die auf 90° C erhitzt worden war, beobachtet werden.

Die intravenöse Injektion von 0,5 ml Flüssigkeit aus mittelgroßen (SF), großen (TF) und persistierenden Follikeln (CY) führte zu einer vollständigen Unterdrückung der normalerweise einer Gabe von GnRH folgenden FSH-Sekretion. Die LH-Spiegel stiegen dagegen im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher an.

Verdoppelten wir die Flüssigkeitsmenge auf 1 ml, so konnte die durch GnRH induzierte FSH-Freisetzung ebenfalls unterdrückt werden, eine Senkung des FSH-Spiegels unter den Ausgangswert wurde jedoch nicht erreicht.

Wurde diese Flüssigkeitsmenge auf ein Viertel verringert, so war noch eine im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant geringere FSH-Freisetzung feststellbar.

Es konnte kein statistisch gesicherter Unterschied in den FSH- und LH-Ausgangswerten der durch intraperitoneale Injektionen vorbehandelten Ratten zu den Ratten, bei denen die i.p.-Injektionen unterlassen wurden, festgestellt werden.

3. Diskussion

3.1 Inhibinaktivität in der Follikelflüssigkeit

Durch unsere Versuche konnten wir in Follikelflüssigkeit aus Rinderovarien die Wirkung einer Substanz nachweisen, die selektiv den durch das synthetische Gonadotropinreleasinghormon (GnRH) induzierten Anstieg des Serum-FSH-Spiegels hemmt. Diese Substanz war wasserlöslich und hitzeinstabil. In anderen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß das Inhibin aus Hoden und die von uns beschriebene Substanz gleiche chemische und biologische Eigenschaften haben. Es darf daher angenommen werden, daß auch im Ovar eine Inhibinproduktion stattfindet.

In Follikeln, deren Durchmesser kleiner als 0,5 cm war (PF) konnten wir keine Inhibinwirkung nachweisen, die Reaktion der Hypophyse auf GnRH-Belastung nach Injektion von Flüssigkeit aus PF unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe.

Als möglicher Produktionsort des Inhibins im weiblichen Organismus wurden von BECKER et al. (4) die Granulosazellen vermerkt. Unsere Ergebnisse können dies erhärten. Das histologische Bild der Follikel, in denen wir keine Inhibinwirkung nachweisen konnten, zeigte eine dünne Granulosazellschicht. Flüssigkeiten aus mittelgroßen (SF), großen (TF) und persistierenden Follikeln (CY), bei denen im histologischen Bild eine dicke Granulosaschicht zu sehen war, enthielten dagegen Inhibin.

Auffällig war bei unseren Versuchen, daß durch die intraperitonealen Injektionen inhibinhaltiger Follikelflüssigkeiten der FSH-Anstieg nach der Kastration im

Vergleich zur Kontrollgruppe nicht zu unterdrücken war. Dieser Befund steht im Widerspruch zu Ergebnissen von SETCHELL. Er konnte den Anstieg des FSH-Spiegels durch mehrmalige i.p.-Injektionen von Rete-Testis-Flüssigkeit unmittelbar nach der Kastration unterdrücken (6). SETCHELL nahm jedoch zu seinen Versuchen juvenile Ratten, bei denen noch keine Spermatogenese stattgefunden hatte. Diese Tiere reagierten möglicherweise empfindlicher auf das intraperitoneal injizierte Inhibin. Eine andere Erklärung wäre, daß unsere verwendete Dosis zu gering war, oder daß es auf Grund der mehrmaligen i.p.-Gaben mit dem nicht pyrogenfreien Untersuchungsmaterial zu peritonealen Reizungen kam, die zur Inaktivierung des Inhibins geführt haben könnten.

3.2 Angriffspunkt des Inhibins

FRANCHIMONT et al. konnten 1975 durch Injektionen von Spermaplasma die GnRH-induzierte FSH-Sekretion hemmen, ohne die LH-Sekretion zu beeinflussen (13).

In vitro konnte gezeigt werden, daß Rete-Testis-Flüssigkeit oder Extrakte aus Stierhoden selektiv die GnRH-induzierte FSH-Freisetzung von Rattenhypophysen hemmen (6, 34). Damit war klar geworden, daß der Angriffspunkt des Inhibins aus den männlichen Keimdrüsen die Hypophyse sein muß. In unseren Untersuchungen mit Inhibin aus der Follikelflüssigkeit kamen wir zu den gleichen Ergebnissen.

3.3 Dosisabhängige Wechselwirkung zwischen Inhibin und GnRH

Wir konnten in unseren Versuchen zum ersten Mal eine dosisabhängige Wechselwirkung zwischen Inhibin und GnRH zeigen. Nach Injektion unterschiedlicher Mengen inhibinhaltiger Follikelflüssigkeit zusammen mit einer konstanten Menge von GnRH kam es bei steigenden Dosen der Follikelflüssigkeit zu einem zunehmend geringeren Anstieg des FSH-Spiegels. Bei einer Zufuhr von 0,5 ml Follikelflüssigkeit war keine FSH-Sekretion auf GnRH-Gabe mehr feststellbar. Erhöhten wir die injizierte Follikelflüssigkeit auf 1 ml, war keine weitere Veränderung im FSH-Spiegel mehr zu sehen, d.h. ein Absinken dieses Spiegels unter den Ausgangswert war nicht zu erreichen. Wir müssen deshalb annehmen, daß das in der Follikelflüssigkeit enthaltene Inhibin die Sekretion von FSH nur in einem bestimmten Maße hemmt.

Da eine wesentlich höhere Inhibinmenge keine weitere Unterdrückung des Serum-FSH-Spiegels bewirkte, kann man vermuten, daß es eine von Inhibin unabhängige FSH-Basissekretion gibt.

Es ist bisher noch nicht geklärt, ob FSH und LH in den gleichen chromophoben Zellen des Hypophysenvorderlappens (HVL) synthetisiert werden, oder ob für ihre Bildung unterschiedliche Zellgruppen verantwortlich sind. LELEUX (26) und PHIFER (32) konnten mit Hilfe von immunhistochemischen Reaktionen zeigen, daß einzelne chromophobe Zellen des HVL sowohl FSH wie LH produzieren. NAKANE et al. zeigten darüber hinaus, daß es neben diesen Zellen solche geben muß, die ausschließlich entweder FSH oder LH sezernieren (28).

Eine von Inhibin unabhängige Sekretion von FSH könnte dadurch erklärt werden, daß Inhibin nur auf die Zell-

gruppen wirkt, die ausschließlich FSH produzieren, auf die Zellen, die beide Gonadotropine produzieren, jedoch keinen Einfluß hat.

Diese Maßnahme könnte durch Untersuchungen mit markiertem Inhibin und die Beobachtung seiner Anlagerung an die entsprechenden Zellgruppen des HVL bewiesen werden. Diese Untersuchungen sind erst nach Reindarstellung des Inhibins möglich.

Außerdem ließ sich statistisch sichern, daß es mit steigender Inhibinzufuhr zu einer im Gegensatz zur Kontrollgruppe vermehrten LH-Ausschüttung kam.

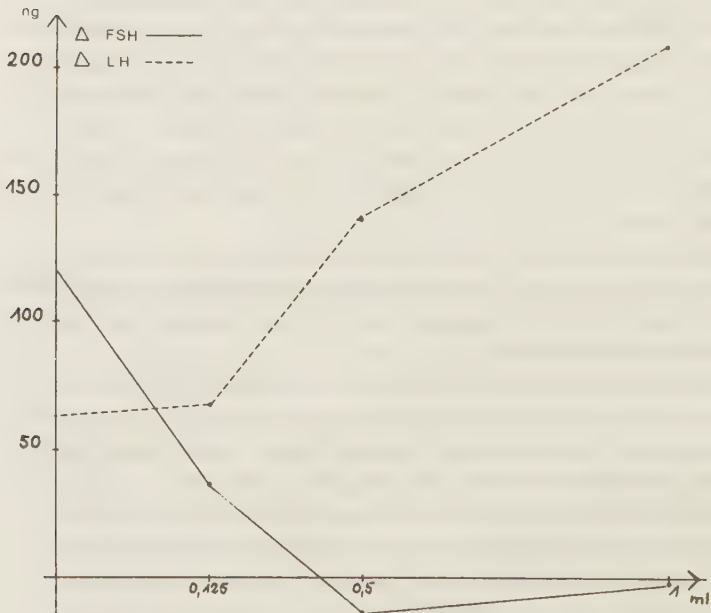


Abbildung 20: Differenz der Gonadotropinspiegel von 0 Minuten und 30 Minuten nach Injektion von 1 μ g GnRH und unterschiedlicher Mengen der Follikelflüssigkeit

Ähnliche Beobachtungen sind bisher nicht beschrieben worden. Eine mögliche Erklärung wäre, daß an den für die Gonadotropinfreisetzung verantwortlichen Zellen im Hypophysenvorderlappen unterschiedliche Rezeptoren für die Regulation der FSH- und LH-Freisetzung vorhanden sind. Wären diese isoliert für die FSH-Freisetzung durch Inhibin blockierbar, so könnte GnRH mehr auf diejenigen Rezeptoren wirken, die nur für die LH-Freisetzung verantwortlich sind. Dieselbe Menge an GnRH bewirkte somit bei einer gleichzeitigen Gabe von Inhibin einen geringeren Anstieg des FSH-Spiegels und einen höheren Anstieg des LH-Spiegels, als bei alleiniger Gabe des Releasinghormons. Bezüglich der FSH-Freisetzung wäre damit ein kompetitiver Antagonismus zwischen Inhibin und GnRH anzunehmen.

4. Zusammenfassung

Durch Untersuchungen an kastrierten männlichen Ratten konnte gezeigt werden, daß im Ovar von Rindern eine Substanz gebildet wird, die die vermehrte Freisetzung von FSH nach Gabe des synthetischen Gonadotropinreleasinghormons (GnRH) aus dem HVL selektiv unterdrückt. Diese Substanz ist wasserlöslich und hitzeinstabil. Sie stimmt in ihren biologischen und chemischen Eigenschaften mit dem Inhibin aus dem Hoden überein.

Der Produktionsort von Inhibin im weiblichen Organismus sind vermutlich die Granulosazellen des Ovars, da sich seine Wirkung nur in Follikeln nachweisen ließ, die im histologischen Bild eine ausgereifte Granulosazellschicht zeigten.

Es konnte eine dosisabhängige Wechselwirkung zwischen Inhibin und GnRH festgestellt werden. Inhibin hemmte in steigenden Dosen zunehmend die FSH-Sekretion. Eine vollständige Unterdrückung der FSH-Sekretion durch Inhibin war jedoch nicht möglich. Gleichzeitig stieg die LH-Sekretion nach Gabe von GnRH und inhibinhaltiger Flüssigkeit deutlicher an als bei alleiniger GnRH-Zufuhr.

Auf Grund der Wechselwirkung zwischen Inhibin und GnRH kann angenommen werden, daß Inhibin seine Wirkung an der Hypophyse entfaltet.

5. Anhang

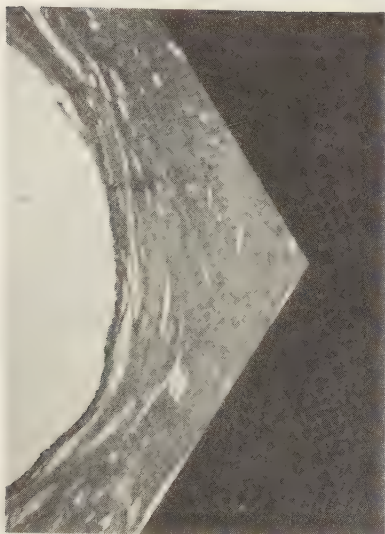


Abb. 21:

Ausschnitt aus einem kleinen Follikel (PF) mit dünner Granulosa-zellschicht und ohne nachweisbarer Inhibinproduktion

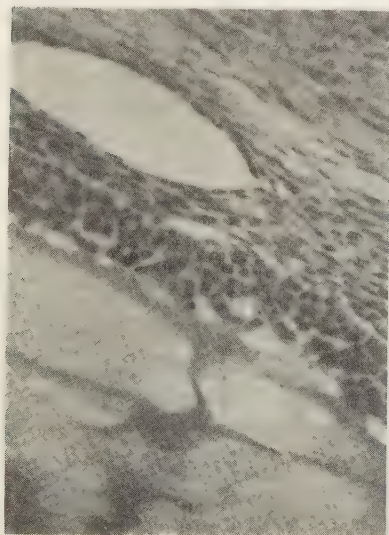


Abb. 22:

Ausschnitt aus der proliferierenden Granulosa-zellschicht eines Follikels mit nachweisbarer Inhibinproduktion.



Abb. 23: Makroskopische Aufnahme eines Rinderuterus und Ovars mit großen Follikeln (TF).

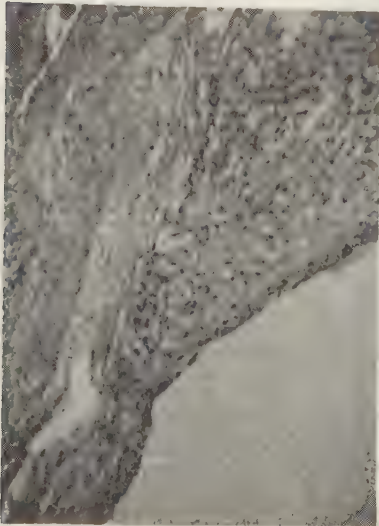


Abb. 24:

Unvollständige Luteinisation der Granulosazellen in einem persistierenden Follikel (CY).

6. Literaturverzeichnis

1. ALLANSON, M., R. DEANESLY: Observations on cadmium damage and repair in rat testes and the effect on the pituitary gonadotrophs.
J. Endocrinol. 24: 453 (1962)
2. BECKER, H.: Untersuchungen mit dem synthetischen LH releasing-Hormon.
Erlangen, Habilschrift (1976)
3. BECKER, H., M. KLUPP, Y. EPSTEIN, U. SEIDL, B. LUNEN_FELD: Evidence for on FSH-inhibitory factor derived from follicular fluid.
The Endocrine Society, 59th Annual Meeting, Program and Abstracts: 246
4. BECKER, H., J.W. ROHEN, E. RANGER: Untersuchungen an bestrahlten Affenovarien.
Im Druck.
5. MC CULLOGH, D.R.: Dual endocrine activity of testis.
Science, N.Y. 76 : 19 (1932)
6. DAVIS, R.V., S.J. MAIN, M.G.W.L. YOUNG, B.P. SETCHELL: Bioassay of inhibin-like activity in rete testis fluid and its partial purification.
J. Endocrinol. 68 : 26 (1976)
7. DEBELJUK, L., A. ARIMURA, A.V. SCHALLY: Pituitary and serum FSH and LH levels after massive and selective depletion of the germinal epithelium in the rat testis
Endocrinology 92 : 48 (1973)

8. DEBELJUK, L.: Serum follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone levels in male rats
• with experimentally induced damage of the germinal epithelium.
J. Endocrinol. 66 : 53 (1975)
9. DOHLER, K.H., A. VON DER MÜHLEN, K. GARTNER,
U. DOHLER: Various blood sampling techniques and their effects on pituitary hormones in rats.
Acta endoc. Suppl. 202, 86 : (1976)
10. DRUMMOND, J.C., R.L. NOBLE, M.D. WRIGHT: Studies on the relationship of vitamin E (tocopherols) to the endocrine systems.
J. Endocrinol. 1 : 275 (1939)
11. FRANCHIMONT, P.: Human gonadotrophin secretion.
J.R. Coll. Physicians (London) 6 : 283 (1972)
12. FRANCHIMONT, P.: Human gonadotrophin secretion in male subjects. In: JAMES, V.H.T., M. SERIO, L. MARTINI (eds.):
The Endocrine Function of Human Testis, p. 439 - 458. London, UK, New York: Academic Press, 1973
13. FRANCHIMONT, P., S. CHARI, M.T. HAGELSTEIN,
S. DURAIWANI: Existence of a follicle-stimulating hormone inhibiting factor "inhibin" in bull seminal plasma.
Nature (London) 257 : 402 (1975)

14. GATZ, A.J.: Cytological relationship between the hypophysis and the germinal epithelium of the testis.
Anat. Rec. 70 : 619 (1937)
15. GIROD, C.: Etude des cellules gonadotropes antehypophysaires du singe *Macacus irus* F. Cuv., après administration de chlorure de cadmium.
C.R. Séanc. Soc. Biol. 158 : 948 (1964)
16. GOMES, W.R., R.W. HALL, S.K. JAIN, L.R. BOOTS: Serum gonadotropin and testosterone levels during loss and recovery of spermatogenesis in rats.
Endocrinology 93 : 800 (1973)
17. GRIESBACH, W.E., M.E. BELL, M. LIVINGSTONE: Changes in the pituitary gonadotrophs of the vitamin E deficient male rat.
Endocrinology 60 : 729 (1957)
18. GUENTHER, W.C.: Analysis of Variance.
Prentice Hall: Englewood Cliffs (1964)
19. HIRSCHHÄUSER, C., C. HOPKINSON, E. DAUME, G. STURM, E. FRITZE: Inhibin-like activity in ovarian tissue V. International Congress of Endoc. Abstracts of short communications and Poster Presentation. 257 (1976)
20. JOEL, C.A.: Veränderungen der Hypophyse nach Röntgenbestrahlung der Hoden.
Schweiz. Med. Wochenschr. 72 : 795 (1942)

21. JOEL, C.A., H. VAN WATTENWYL: Veränderungen in der Hypophyse nach Röntgenbestrahlung des Hodens. Strahlentherapie 71 : 139 (1942)
22. DE JONG, F.H., R.M. SHARPE: Evidence for inhibin-like activity in bovine follicular fluid. Nature 263 : 71 (1976)
23. KOEGH, E.J., K.W. LEE, G.C. RENNIE, H.G. BURGER, B. HUDSON, D.M. DE KRETSEER: Selective suppression of FSH by Testicular Extracts. Endocr. 98 : 997 (1976)
24. KONEFF, A.A.: Pituitary changes in male rats reared and maintained on "pure" dietaris with and without vitamin E. Anat. Rec. 74 : 383 (1939)
25. LEE, V.W.K., E.J. KEOGH, D.M. DE KRETSEER, B. HUDSON: Selective suppression of FSH by testis extracts. IRCS (Endocrine, Physiology, Reproduction) 2 : 1406 (1976)
26. LELEUX, P., C. ROBYN: Immunohistochemistry of individual adenohypophysial cells. Acta Endocrinol. (suppl) (Kbh) 153 : 168 (1971)
27. LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR, R.J. RONDALL: Protein Determination. J. Biol. Chem. 193 : 265 (1951)
28. NAKANE, P.K.: Distribution of gonadotrophic cells in the anterior pituitary gland of the rat. In: SEGAL, S.Y, R. CROZIER, P.A. CORTMANN, P.G. CANDLIFFE: The Regulation of mammalian reproduction. Charles. C. Thomas. Lond. 79 (1973)

29. NANDINI, G., H. LIPNER, N.R. MOUDGAL: Model
System studying Inhibin.
Endo 98 : 1460 (1976)

30. NELSON, W.O.: Studies on the anterior hypophysis.
3. The anterior hypophysis in vitamin E de-
ficient rats.
Anat. Rec. 56 : 241 (1933)

31. NELSON, W.O., E. STEINBERGER: Effect of furadoxyl
upon the testis of the rat.
Anat. Rec. 112 : 367 (1952)

32. PHIFER, R., A.R. MIDGLEY, S.S. SPICER: Immunohisto-
logic and histologic evidence that follicle-
stimulating hormone and luteinizing hormone
are present in the same cell typ in the human
pars distalis.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 35 : 125 (1973)

33. SCHENK, F.: Über die Veränderungen der Rattenhypo-
physe nach operativer und Röntgenkastration
Z. Geburtsh. Gynäk. 91 : 483 (1927)

34. SCHENK, B., R. VON BERSWORDT-WALLRABE, S. MATHES:
INHIBIN, Arbeitstagung: "Physiologie und Patho-
physiologie der Hodenfunktion"
Canstein / Sauerland 17.6. - 19.6.1976

35. SETCHELL, B.P., D.J. SIRINATHSINGHJI: Antigonado-
trophic activity in rete testis fluid, a pos-
sible "inhibin".
J. Endocrinol. 53 : 1 x - 1 xi (1972)

36. SETCHELL, B.P., A.L.C. WALLACE: Penetration of
 iodine labelled follicle stimulating hormone
 and albumin into the seminiferous tubules
 of sheep and rats.
 J. Endocrinol. 54 : 67 (1972)
37. SETCHELL, B.P.: Secretions of the testis and
 epidymis.
 J. Reprod. Fert. 37 : 165 (1974)
38. SETCHELL, B.P., F. JACKS: Inhibin-like activity
 in rete testis fluid.
 J. Endocrinol. 62 : 675 (1974)
39. VAN THIEL, D.H., R.J. SHERINS, G.H. MYERS jr.,
 V.T. DE VITA jr.: Evidence for a specific
 seminiferous tubular factor affecting follicle-
 stimulating hormone secretion in man.
 J. Clin. Invest. 51 : 1009 (1972)
40. VAN WAGENEN, G.: Histological changes in the male
 rat hypophysis following degeneration of the
 germial epithelium.
 Anat. Rec. 29 : 398 (1925)

Für die Überlassung des Themas, die großzügige Unterstützung bei der Durchführung und die wertvollen Hinweise bei der Abfassung des Manuskripts danke ich besonders Herrn Priv.-Doz. Dr.med.

H. B e c k e r .

Herrn Prof. Dr. B. L u n e n f e l d und seinen Mitarbeitern am Endokrinologischen Institut des Chaim Sheba Medical Center in Tel-Hashomer/Israel möchte ich danken für die Bereitstellung des Labormaterials und die Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Tierversuche.

Bedanken möchte ich mich weiterhin bei Herrn Dipl. math. H. P r e s t e l e für die Durchführung der statistischen Auswertung.

L E B E N S L A U F

Am 11. Dezember 1952 wurde ich in Waldsassen als drittes Kind von Dr. Odo Seidl und seiner Frau Gertraud, geb. Werner, geboren.

Von 1959 - 1963 besuchte ich in Waldsassen die Volksschule. 1963 trat ich in das Maria-Ward-Gymnasium in München-Nymphenburg über. 1966 wechselte ich an das Stiftland-Gymnasium Tirschenreuth. Dort besuchte ich den neusprachlichen Zweig und legte 1972 meine Reifeprüfung ab. Seit dem Wintersemester 1972/73 studiere ich Humanmedizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

Im März 1975 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und im März 1976 den ersten Teil der ärztlichen Prüfung.

Im Sommersemester 1976 war ich zu einem Forschungsaufenthalt am Chaim Sheba Medical Center Tel-Hashomer/Israel.

1978 bestand ich den 2. Teil der Ärztlichen Prüfung und am 7. Mai 1979 die Ärztliche Prüfung.



